

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Sistem imun tubuh seseorang dapat menurun karena adanya pengaruh dari beberapa faktor, seperti bakteri, virus, toksin atau zat lain yang oleh tubuh dianggap bukan bagian dari dirinya (Sloane, 2003). Selain itu, perubahan yang terjadi pada fungsi fisiologis tubuh juga bisa disebabkan oleh adanya faktor stres. Stres merupakan gangguan keseimbangan atau homeostatis dalam kehidupan individu yang disebabkan adanya tuntutan lingkungan yang melebihi kemampuan individu untuk mengatasinya (Rudkin, 2003).

Penurunan respon imun tubuh yang disebabkan oleh stres dari aktivitas fisik dapat diamati dengan adanya perubahan jumlah pada sel darah putih yang merupakan bagian dari sel sistem imun (Lovallo, 1997; McLeod, 2010). Ketika terjadi stres maka akan terjadi perubahan keseimbangan hormon terutama pada kelenjar hormon yang dimediasi oleh *hypothalamic-pituitary adrenal axis* (HPA) dan *simpatetik medulla adrenal axis* (SMA). Aktivasi *HPA axis* ini akan menyebabkan pelepasan *corticotropin releasing hormone* (CRH) yang kemudian CRH tersebut akan merangsang kelenjar pituitari anterior sehingga melepaskan *adrenocorticotrophic hormone* (ACTH). ACTH yang dilepaskan akan mengaktifkan proses biosintesis dan melepaskan glukokortikoid dari korteks adrenal terutama kortisol ke dalam aliran darah. Kadar kortisol yang berlebihan dapat menekan efektivitas sistem kekebalan tubuh untuk melawan antigen dengan menurunkan jumlah limfosit, akibatnya tubuh menjadi lebih rentan terhadap infeksi. Sedangkan aktivasi *SMA axis* akan

meningkatkan produksi epinefrin atau adrenalin oleh medulla kelenjar adrenal sehingga dapat menyebabkan peningkatan jumlah neutrofil (Gunawan & Sumadiono, 2007).

Sebagian besar fungsi fisiologis tubuh diatur oleh sistem saraf. Sistem saraf tersebut berfungsi untuk mengatur stimulus internal dan stimulus eksternal. Saat individu terpapar *stressor* maka pusat emosi yang terletak di sistem saraf pusat terutama bagian otak tengah (hipotalamus) akan dirangsang (Gunawan & Sumadiono, 2007). Di dalam kinerjanya sistem saraf didukung oleh peranan fungsi kognitif. Fungsi kognitif merupakan suatu proses yang membentuk gagasan, menyelesaikan beragam masalah dan memberikan keputusan terhadap penyelesaian suatu masalah (Passer & Smith, 2001). Parameter dari fungsi kognitif ini yaitu daya ingat atau memori. Otak besar, otak kecil, diensefalon serta otak tengah sangat berperan penting dalam pembentukan daya ingat atau memori. Pembentukan ingatan atau memori juga sangat dipengaruhi oleh neurotransmitter otak yang terdiri dari asetilkolin (Ach), katekolamin, serotonin, beberapa asam amino, dan sejumlah neuropeptida (Sloane, 2003).

Faktor stres juga dapat menurunkan fungsi memori otak. Hal ini dikarenakan stres dapat menyebabkan terjadinya perubahan morfologis di hippocampus, yang disertai dengan adanya penurunan fungsi hippocampus, salah satunya yaitu dengan terjadinya penurunan pada fungsi memori. Menurut Wiyono, Aswin dan Harijadi (2007), ketika terjadi stres maka akan disekresikan hormon glukokortikoid dengan kadar yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan perubahan degeneratif pada sistem saraf pusat, termasuk di antaranya penurunan neurogenesis, atrofi neuronal yang disertai dengan penurunan memori.

Di dalam mempertahankan fungsi sistem imun tubuh, sistem saraf dan fungsi kognitif dapat dibantu oleh imunomodulator yang dapat menstimulasi (*imunostimulator*) maupun mensupresi (*imunosupresiva*) sistem imun tubuh. Imunomodulator atau *Biological Response Modifiers*, merupakan zat-zat yang dapat mempengaruhi reaksi biologis tubuh terhadap zat-zat asing (Tjay & Rahardja, 2007). Di Indonesia ada beberapa tanaman yang dapat bersifat sebagai imunomodulator. Tanaman *Echinacea* merupakan salah satu tanaman imunomodulator yang dapat menstimulasi (*imunostimulator*) ketahanan imun pada terapi komplementer. *Echinacea* juga merupakan tanaman pertama yang dibuktikan secara ilmiah khasiat stimulasinya terhadap sistem imun pada tahun 1914 (Tjay & Rahardja, 2007; Rahardjo, 2005). *Echinacea* diketahui khasiatnya dan dimanfaatkan sebagai pengobatan oleh suku Indian pada tahun 1600-an dan digunakan sebagai obat sakit gigi, gangguan saluran pernapasan, batuk, demam, berbagai infeksi, gigitan serangga serta untuk menambah stamina (Hobbs, 1994). Menurut Douglas (1993), *Echinacea* merupakan salah satu tanaman obat potensial dari famili Asteraceae yang berfungsi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh. *Echinacea purpurea* merupakan jenis tanaman *Echinacea* yang paling banyak digunakan dalam pengobatan saat ini karena memiliki kandungan polisakarida terbanyak jika dibandingkan dengan jenis lainnya serta kemampuan adaptasinya lebih tinggi. Kandungan berkhasiat yang dimiliki *Echinacea purpurea* yaitu polisakarida, flavonoid, asam kafein, minyak atsiri, poliasetilen, alkalamid. Polisakarida dan *chicoric acid* yang larut air berfungsi sebagai stimulan terhadap ketahanan tubuh, sedangkan komponen lemak yang larut seperti isobutilamid berfungsi untuk meningkatkan fagositosis sel (Rahardjo, 2005).

Selain tanaman *Echinacea purpurea*, tanaman *Andrographis paniculata* juga tergolong dalam tanaman imunomodulator. Tanaman yang berasal dari suku Acanthaceae ini telah dikenal sejak beberapa ratus tahun yang lalu dan telah tercantum sebagai tanaman obat tradisional Cina dalam *Chinese Pharmacopeia*. *Andrographis paniculata* mengandung diterpene, laktone dan flavonoid, *andrographolide*, *14-deoxy-11-oxoandrographolide*, *14-deoxy-11, 12-didehydiandrographolide*, *neoandrographolide*, apigenin-7, 40-di-omethyl ether, carvacrol, eugenol, myristic acid, hentriacontane, tritriacontane, oroxylon A dan wogonin (Akbar, 2011; Balmain and Connolloy, 1973; Rastogi and Mehrotra, 1993). Menurut Dalimartha (1999), yang menjadi komponen aktif utama dari tanaman *Andrographis paniculata* yaitu *andrographolide* yang dapat berkhasiat sebagai imunomodulator, antibakteri, antiradang, analgesik, antipiretik, menghilangkan panas dalam serta sebagai penawar racun. Menurut Suhirman dan Winarti (2007), zat aktif *andrographolide* yang bertindak sebagai imunomodulator ini memiliki dua fungsi ganda yakni sebagai imunosupresan dan imunostimulan.

Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Luan (2014), memberikan hasil bahwa aktivitas fisik berlebihan yang diberikan pada hewan coba dapat menyebabkan stres yang mengakibatkan terjadinya peningkatan jumlah neutrofil dan penurunan jumlah limfosit. Penelitian ini dilakukan dengan memberikan *stressor* berenang (*swimming test*) pada suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dengan berbagai rentang waktu yaitu 5, 10, dan 20 menit. Penelitian tersebut dilakukan pada hewan coba mencit selama 7 hari. Selanjutnya dilakukan pengambilan darah untuk melihat adanya perubahan jumlah limfosit dan neutrofil. Hasil penelitiannya menyatakan bahwa lama

perenangan 5 menit saja sudah dapat menyebabkan stres pada mencit putih jantan dan menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah neutrofil dan penurunan jumlah limfosit.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Meles dkk. (2014), menyimpulkan bahwa pemberian kombinasi herba *Andrographis paniculata* dan herba *Echinacea purpurea* dapat berperan sebagai imunomodulator pada mencit yang dibuat stres dengan memberikan *stressor* panas pada mencit sebagai hewan cobanya. Penelitian ini dilakukan selama 28 hari, selanjutnya dilakukan pengambilan darah dari jantung mencit untuk melihat total dan jenis leukositnya. Hasil penelitiannya menyatakan bahwa pemberian kombinasi sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan *Echinacea purpurea* dapat berperan sebagai imunomodulator dengan mampu meningkatkan jumlah leukosit pada hari ke-7 dan menurunkannya pada hari ke-21, serta memberi pengaruh terhadap peningkatan jumlah eosinofil pada hari ke-7, serta penurunan jumlah neutrofil dan limfosit pada hari ke-21, tetapi masih dalam batas-batas normal. Sementara itu, jumlah monosit tidak mengalami perubahan.

Berdasarkan uraian penelitian-penelitian di atas, maka dapat disimpulkan bahwa aktivitas fisik berlebihan seperti berenang (*swimming test*) dapat menyebabkan stres dan menyebabkan terjadinya perubahan jumlah limfosit dan neutrofil pada hewan coba, dan kombinasi tanaman *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* dapat bertindak sebagai imunomodulator. Pada penelitian ini, akan dilakukan pemberian *stressor swimming test* dan kombinasi ekstrak etanol *Andrographis paniculata* dan *Echinacea purpurea* pada hewan coba mencit putih jantan. Yang membedakan penelitian ini dari penelitian-penelitian sebelumnya ialah

metode dan bagian tanaman yang digunakan, dimana mencit akan diberikan aktivitas fisik berlebih sebagai penginduksian stres dengan *swimming test* pada suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dalam rentang waktu 10 menit selama 30 hari.

Pemberian kombinasi ekstrak etanol yang diberikan ialah ekstrak etanol herba *Andrographis paniculata* dengan ekstrak etanol *Echinacea purpurea* bagian batang dan bunganya. Alasan pemilihan kedua tanaman ini untuk dijadikan kombinasi karena khasiat *Echinacea purpurea* yang dapat menambah stamina tubuh, dan khasiat *Andrographis paniculata* yang dapat bertindak sebagai antibakteri. Sehingga diharapkan adanya efek yang sinergis dari kedua tanaman tersebut, dimana sistem imun tubuh dapat meningkat dan dapat dipertahankan.

Peneliti tertarik dalam pengambilan batang dan bunga *Echinacea purpurea* untuk dijadikan kombinasi dengan herba *Andrographis paniculata*, karena selama ini telah banyak beredar produk-produk herbal di masyarakat yang menggunakan herba, akar ataupun bunga *Echinacea purpurea*. Alasan pemilihan batang *Echinacea purpurea* karena di dalam batang tersebut terdapat kandungan flavonoid yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun (imunomodulator), selain kandungan komponen polisakaridanya yang dikenal fungsinya untuk menstimulasi sistem kekebalan tubuh dan regenerasi jaringan yang rusak serta meningkatkan jumlah sel fagosit dan makrofag (Suhirman dan Winarti, 2005). Menurut Mistrikova and Vaverkova (2006), kandungan flavonoid terbesar ada pada bagian daun dan batang *Echinacea purpurea*. Pemilihan batang juga dilakukan dengan mempertimbangkan dari sisi kemampuan adaptasi dan kecepatan untuk tumbuhnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian tanaman lainnya. *Echinacea purpurea* merupakan tanaman yang dapat

ditumbuhkan baik dengan menggunakan bijinya atau juga dapat ditumbuhkan secara vegetatif, yakni melalui tunas batang yang tumbuh dari batang bawah di atas tumbuhnya akar. Apabila batang tanaman dipangkas tepat di atas permukaan tanah, maka akan muncul tunas-tunas baru (Rahardjo, 2005). Dengan kata lain, batang *Echinacea purpurea* jauh lebih mudah didapatkan (tidak tergantung pada musim untuk pertumbuhannya). Sedangkan untuk bunga *Echinacea purpurea* pertumbuhannya tergantung dari musim, sehingga untuk mendapatkan bunganya dalam jumlah banyak agak kesulitan. Namun dalam penelitian ini tetap dilakukan pengambilan bunga *Echinacea purpurea* untuk kombinasi dengan tujuan ingin membandingkan khasiat imunomodulatornya dengan batang *Echinacea purpurea*. Hal ini dikarenakan selain sudah ada beberapa produk yang menggunakan bunga *Echinacea purpurea*. Perbedaannya jika di batang terdapat kandungan flavonoid, sedangkan pada bunga terdapat kandungan aktif yang paling besar yaitu *chichoric acid* yang berfungsi sebagai imunomodulator (Mistrikova and Vaverkova, 2006). Urutan alokasi kandungan *chicoric acid* dari yang paling besar sampai yang paling kecil yaitu bunga, daun, batang, akar (Lin, Sung and Chen, 2011).

Tahapan penelitian ini dimulai dengan pembuatan simplisia *Echinacea purpurea* (dipisahkan antara batang dan bunga) dan simplisia herba *Andrographis paniculata*. Kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode maserasi. Pemilihan etanol sebagai pelarut ekstraksi karena sifatnya yang mudah menguap, tidak toksik, ramah lingkungan, ekonomis dan selektif. Metode ekstraksi yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol *Echinacea purpurea* yaitu metode ekstraksi cara dingin, yakni maserasi. Proses maserasi dipilih karena tidak

membutuhkan pelarut yang banyak jika dibandingkan dengan perkolasi, mudah dilakukan dan cenderung tidak merusak kandungan senyawa aktif karena maserasi dilakukan pada suhu ruang. Setelah tahap maserasi, kemudian dilanjutkan dengan penguapan ekstrak untuk mendapatkan ekstrak kental.

Selanjutnya dilakukan uji aktivitas terhadap hewan coba mencit putih jantan dengan memberikan *stressor swimming test* pada suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dalam rentang waktu 10 menit selama 30 hari, serta diberi empat jenis kombinasi ekstrak etanol antara lain (Batang *Echinacea purpurea* dengan Herba *Andrographis paniculata*), (Bunga *Echinacea purpurea* dengan Herba *Andrographis paniculata*), (Batang *Echinacea purpurea* dengan Bunga *Echinacea purpurea*), (Batang *Echinacea purpurea*, Bunga *Echinacea purpurea* dan Herba *Andrographis paniculata*). Pada penelitian ini juga diberikan kontrol positif ₁ dan kontrol positif ₂. Kontrol positif ₁ merupakan kelompok perlakuan yang diberi *stressor swimming test* yang sama dengan kelompok perlakuan lainnya dan diberikan induksi obat *Echinacea*[®] yang mengandung ekstrak akar *Echinacea* yang telah diketahui khasiatnya untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan peneliti bertujuan untuk membandingkan dengan kombinasi ekstrak etanol batang/bunga *Echinacea purpurea* dan herba *Andrograhis paniculata* yang akan diujikan juga dapat memberikan peningkatan sistem kekebalan tubuh. Sedangkan kontrol positif ₂ merupakan kelompok perlakuan yang diberi *stressor swimming test* yang sama dengan kelompok perlakuan lainnya dan diberikan induksi obat Piracetam 800 mg yang telah diketahui khasiatnya bahwa obat piracetam melindungi otak melalui efek neuronal dan hemodinamik. Dengan adanya kontrol positif ₂ tersebut peneliti berharap

agar kombinasi ekstrak etanol batang/bunga *Echinacea purpurea* dan herba *Andrographis paniculata* juga dapat memberikan efek yang sama atau lebih dari obat piracetam yang mengarah pada SSP (otak). Setelah perlakuan selama 30 hari, selanjutnya dilakukan pengujian daya ingat dapat dilakukan pada hewan coba seperti mencit dengan menggunakan metode *T-Maze Labyrinth*. Pada tahap akhir akan dilakukan pengambilan sampel darah mencit. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk melihat adanya pengaruh kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* (Batang, Bunga) dan *Andrographis paniculata* sebagai imunomodulator terhadap profil darah terutama pada perubahan jumlah limfosit-neutrofil, serta fungsi kognitif mencit putih jantan dengan adanya induksi *stressor* swimming test.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah diuraikan di atas, maka permasalahan yang akan diteliti adalah :

1. Apakah terjadi perbedaan jumlah neutrofil pada mencit putih jantan yang terpapar *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih metode *swimming test* dengan adanya pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan dibandingkan dengan kelompok kontrol ?
2. Kelompok perlakuan mencit putih jantan manakah yang mengalami peningkatan jumlah limfosit paling tinggi dengan adanya *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih dengan metode *swimming test* dan pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea*

- purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan ?
3. Bagaimana profil berat badan pada mencit putih jantan yang terpapar *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih metode *swimming test* dengan adanya pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan ?
 4. Kelompok perlakuan mencit putih jantan manakah yang mengalami peningkatan fungsi kognitif dengan metode pengukuran *T-Maze Labyrinth* yang terpapar *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih dengan metode *swimming test* dan pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan di atas, maka tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui adanya perbedaan jumlah neutrofil pada mencit yang terpapar *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih metode *swimming test* dengan adanya pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Untuk mengetahui kelompok perlakuan mencit putih jantan yang mengalami peningkatan jumlah limfosit paling tinggi dengan adanya *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih dengan metode

swimming test dan pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan.

3. Untuk mengetahui profil berat badan mencit yang terpapar *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih metode *swimming test* dengan adanya pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan.
4. Untuk mengetahui kelompok perlakuan mencit putih jantan yang mengalami peningkatan fungsi kognitif dengan metode pengukuran *T-Maze Labyrinth* dengan adanya *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih dengan metode *swimming test* dan pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan.

1.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan uraian di atas maka diajukan hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Terjadi perbedaan jumlah neutrofil pada mencit putih jantan yang terpapar *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih metode *swimming test* dengan adanya pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Kelompok mencit putih jantan yang diberi kombinasi ekstrak etanol Batang *Echinacea purpurea* dan Herba *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) yang mengalami

peningkatan jumlah limfosit paling tinggi dengan adanya *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih dengan metode *swimming test* selama 1 bulan.

3. Tidak terjadi perubahan profil berat badan pada mencit putih jantan yang terpapar *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih metode *swimming test* dengan adanya pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) selama 1 bulan.
4. Kelompok mencit putih jantan yang diberi kombinasi ekstrak etanol Batang *Echinacea purpurea* dan Herba *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) yang mengalami peningkatan fungsi kognitif dengan metode pengukuran *T-Maze Labyrinth* dengan adanya *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih dengan metode *swimming test* selama 1 bulan.

1.5 Manfaat Penelitian

Dilakukan penelitian ini, kiranya dapat memberikan sumbangan pengetahuan dan informasi kepada masyarakat tentang akibat yang dapat timbul apabila melakukan aktivitas fisik berlebihan. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi kepada akademisi ataupun para peneliti mengenai pemberian kombinasi ekstrak etanol *Echinacea purpurea* dan *Andrographis paniculata* (perbandingan dosis 1 : 0,5) yang dapat mengatasi perubahan profil darah dan fungsi kognitif yang disebabkan stres dengan adanya *stressor* berupa aktivitas fisik berlebih dengan metode *swimming test* pada hewan coba mencit putih jantan.